



BBL Urea Agar Base Concentrate 10X

(10x koncentrat agaru mocznikowego)

BBL Urea Agar Slants, Complete

(Skosy pełnego agaru mocznikowego)

L007521 • wersja 11 • wrzesień 2015



PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI (Opcjonalnie)

I WPROWADZENIE

Agar mocznikowy to podłoże różnicujące szczepy *Enterobacteriaceae* na podstawie ich zdolności do wytwarzania ureazy.

II PROCEDURA TESTU WYDAJNOŚCI

A. Przepis na przygotowanie z 10X koncentratu agaru mocznikowego podłoża pełnego

1. Aby przygotować podłoże agaru mocznikowego należy dodać 1,7 g granulowanego agaru do 100 mL oczyszczonej wody. Ogrzewać z wytrząsaniem i doprowadzić do wrzenia przez 1 minutę.
2. Rozlać do probówek po 9 mL i sterylizować w autoklawie w 121°C przez 15 minut.
3. Schłodzić agar do 45 – 50°C, a jedną z probówek koncentratu ochłodzić do temperatury pokojowej. Do 9 mL schłodzonego agaru dodać po 1 mL koncentratu i dokładnie wymieszać.
4. Schłodzić pochylone probówki w ten sposób, aby powstały w nich skosy z głębokimi słupkami.

B. Testowanie podłoża pełnego (skosy z agarem mocznikowym)

1. Zaszczepić reprezentatywne próbki podłoża hodowlami wymienionych poniżej szczepów.
 - a. Przy użyciu kalibrowanej ezy 0,01 mL zaszczepić powierzchnie skosów ciężkim inokulum 24 do 48 godzinnych hodowli na skosach agaru sojowego **Trypticase**. Nie zaszczepiać słupków.
 - b. Inkubować probówki z poluzowanymi zatyczkami w temperaturze 35 ± 2°C w atmosferze tlenowej.
2. Zbadać probówki po upływie 2, 4, 6 i 24 godzin pod względem wzrostu i wyników reakcji.
3. Oczekiwane wyniki

Mikroorganizmy	ATCC	Reakcja ureazy
* <i>Proteus vulgaris</i>	8427	+ (Intensywna barwa różowa do czerwono-fioletowej)
<i>Morganella morganii</i> subsp. <i>morganii</i>	8019	+ (intensywna barwa różowa do czerwono-fioletowej)
* <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serotyp Typhimurium	13311	– (brak zmiany barwy)

*Szczep zalecany do przeprowadzania kontroli jakości przez użytkownika.

UWAGA: Niniejsze podłoże jest zwolnione z testów kontroli jakości użytkownika zgodnie ze standardem CLSI M22-A3.

III DODATKOWA KONTROLA JAKOŚCI

1. Ocenic probówki według opisu w części „Pogorszenie jakości produktu”.
2. Wzrokowo ocenic reprezentatywne probówki, aby upewnic się, że w ich użytkowaniu nie będą przeszkadzały żadne istniejące wady fizyczne.
3. Potencjometrycznie określić wartość pH w temperaturze pokojowej, aby upewnic się, że odczyn jest zgodny ze specyfikacją i wynosi 6,8 ± 0,2.
4. Reprezentatywne probówki bez wysianych drobnoustrojów inkubować w temperaturze 20 – 25°C i 30 – 35°C i ocenic po 7 dniach pod względem zanieczyszczenia drobnoustrojami.

INFORMACJA O PRODUKCIE

IV PRZEZNACZENIE

Agar mocznikowy jest stosowany do różnicowania mikroorganizmów (w szczególności *Enterobacteriaceae*) na podstawie zdolności do wytwarzania ureazy.

V STRESZCZENIE I WYJAŚNIENIA

Agar mocznikowy został opracowany przez Christensena jako podłoże stałe do różnicowania pałeczek jelitowych¹. Różnicuje on szybkie ureazowo-dodatnie szczepy *Proteeae* (*Proteus* spp., *Morganella morganii* subsp. *morganii*, *Providencia rettgeri* i niektóre *Providencia stuartii*) od innych organizmów ureazowo-dodatnich: *Citrobacter*, *Enterobacter* i *Klebsiella* oraz bakterie inne niż *Enterobacteriaceae* tj. niektóre gatunki *Bordetella* oraz *Brucella*².

Podłoże jest także dostarczane jako filtrowany i sterylizowany roztwór 10x stężony w probówkach do przygotowywania skosów agaru mocznikowego w laboratorium klienta.

VI ZASADY PROCEDURY

Podłoże mocznikowe Rustigiana i Stuarta³ w szczególności nadaje się do różnicowania gatunków *Proteus* od innych gram-ujemnych pałeczek jelitowych, które potrafią wykorzystywać mocznik¹. Te ostatnie nie są do tego zdolne w bulionie testu ureazowego ze względu na ograniczone składniki odżywcze oraz wysoką zdolność buforującą podłoża. W celu zwiększenia użyteczności podłoża, opracowany przez Christensena¹ agar mocznikowy z peptonem i dekstrozą zawierał mniej bufora dla szybszego wzrostu wielu szczepów *Enterobacteriaceae* oraz skrócenia czasu inkubacji.

Podczas wykorzystywania przez mikroorganizmy mocznika powstają amoniak, który zwiększa odczyn zasadowy podłoża i daje różowo-czerwoną barwę. W konsekwencji wytwarzanie ureazy można wykryć poprzez zmianę barwy czerwonego wskaźnika fenolowego.

VII ODCZYNNIKI

Urea Agar Base Concentrate 10X (10X koncentrat agaru mocznikowego)

Przybliżony skład* w przeliczeniu na 1 litr wody oczyszczonej

Trzustkowy hydrolizat żelatyny.....	10,0 g	Fosforan potasu.....	20,0 g
Dekstroza	10,0 g	Mocznik.....	200,0 g
Chlorek sodu	50,0 g	Czerwień fenolowa.....	0,12 g

*Skorygowany i (lub) uzupełniony zgodnie z wymaganiami mającymi na celu spełnienie kryteriów wydajności.

Urea Agar Slants, Complete (skosy pełnego agaru mocznikowego)

Przybliżony skład* w przeliczeniu na 1 litr wody oczyszczonej

Trzustkowy hydrolizat żelatyny.....	1,0 g	Mocznik.....	20,0 g
Dekstroza	1,0 g	Czerwień fenolowa.....	0,012 g
Chlorek sodu	5,0 g	Agar.....	15,0 g
Fosforan potasu	2,0 g		

*Skorygowany i (lub) uzupełniony zgodnie z wymaganiami mającymi na celu spełnienie kryteriów wydajności.

Ostrzeżenia i środki ostrożności: Do użytku diagnostycznego *in vitro*.

Probówki z ciasno dokręconymi nakrętkami należy otwierać ostrożnie, aby uniknąć obrażeń spowodowanych pęknięciem szkła.

Podczas wykonywania wszystkich procedur należy przestrzegać aseptycznych technik pracy i obowiązujących środków ostrożności dotyczących zagrożenia mikrobiologicznego. Gotowe podłoża w probówkach, pojemniki na próbki oraz inne skażone wyposażenie i materiały należy przed wyrzuceniem poddać sterylizacji w autoklawie.

221100 **BD BBL Urea Agar Base Concentrate 10X** (10X koncentrat agaru mocznikowego), pakowane po 10 probówek rozmiaru K

Uwaga



H315 Działa drażniąco na skórę. **H319** Działa drażniąco na oczy.

P103 Przed użyciem przeczytać etykietę. **P264** Dokładnie umyć po użyciu. **P280** Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. **P305+P351+P338** W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.

Instrukcje dotyczące przechowywania: Otrzymane probówki umieścić i przechowywać w ciemnym miejscu, w temperaturze 2 – 8°C. Unikać zamrażania i przegrzewania. Otwierać bezpośrednio przed użyciem. W podłożach przechowywanych do momentu użycia w probówkach, zgodnie z instrukcjami podanymi na etykiecie, można wykonywać posiewy do dnia określonego terminem ważności, a następnie prowadzić inkubację przez zalecany czas. Ograniczać do minimum ekspozycję na światło.

Pogorszenie jakości produktu: Nie używać podłoża w przypadku widocznych oznak skażenia mikrobiologicznego, zmian zabarwienia, wysychania lub innych objawów świadczących o pogorszeniu jakości.

VIII POBIERANIE PRÓBEK I POSTĘPOWANIE Z NIMI

Dostępne są różne techniki postępowania z próbkami umożliwiającymi uzyskanie hodowli. Szczegółowe informacje znajdują się w odpowiednich pozycjach piśmiennictwa^{4, 5}. Probki należy uzyskać przed zastosowaniem środków przeciwbakteryjnych. Probki powinny zostać niezwłocznie dostarczone do laboratorium.

IX PROCEDURA

Dostarczane materiały: 10X koncentrat agaru mocznikowego lub pełny agar mocznikowy na skosach

Materiały niezbędne, ale nie znajdujące się w zestawie: Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki, drobnoustroje do kontroli jakości i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

Procedura testowa: Stosować techniki aseptyczne.

W przypadku stosowania 10X koncentratu agaru mocznikowego, podłoże pełne należy przygotować zgodnie z opisem w części poświęconej kontroli jakości. Jeżeli w koncentracie powstają kryształy, powinny rozpuścić się w temperaturze pokojowej lub po kilku minutach w łaźni wodnej o temperaturze 40°C.

Używając ciężkiego inokulum z 18 do 24 godzinnej czystej hodowli (na agarze TSI lub innym odpowiednim podłożu) zaszczerpić całą powierzchnię skosu. Nie wymazywać słupków, ponieważ służą one jako kontrola barwy. Inkubować próbki z poluzowanymi zatyczkami w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$ w atmosferze tlenowej. Obserwować reakcje po 2, 4, 6 i 24 godzinach, a następnie codziennie przez 6 dni hodowli. Mogą być niezbędne jeszcze dłuższe czasy inkubacji.

Kontrola jakości przez użytkownika: Patrz „Procedury kontroli jakości”.

Każda partia podłoża została przetestowana przy użyciu odpowiednich drobnoustrojów do kontroli jakości. Ten rodzaj testowania jest zgodny ze specyfikacją produktu i standardami CLSI, jeśli mają zastosowanie. Jak zwykle, testy należy wykonać zgodnie z obowiązującymi wymogami kontroli jakości, wynikającymi z przepisów miejscowych, stanowych, federalnych lub krajowych, wymogami akredytacji i/lub rutynowymi procedurami kontroli jakości w danym laboratorium.

X WYNIKI

Wytwarzanie ureazy jest wskazywane przez intensywną różową (czerwono-fioletową) barwę całego skosu. Barwa ta może wnikać do agaru (słupki), jej intensywność wskazuje na tempo hydrolizy mocznika⁶.

W przypadku reakcji ujemnej nie następuje zmiana koloru, np. podłoże agaru pozostaje żółtopomarańczowe.

Ureazo-dodatnie mikroorganizmy są wymienione w odpowiedniej literaturze^{5, 7, 8}.

XI OGRANICZENIA PROCEDURY

1. Podłoże testu mocznikowego opiera się na wykazaniu zasadowości i z tego względu nie jest specyficzne w wykrywaniu ureazy. Wykorzystanie peptonów, zwłaszcza na skosach (np. *Pseudomonas aeruginosa*) lub innych białek podłoża może zwiększyć zasadowość podłoża ze względu na hydrolizę białka i uwalnianie nadmiaru reszt aminokwasowych, co może skutkować fałszywymi reakcjami dodatnimi².
2. Ureazo-dodatnie *Proteae* na podłożu mocznikowym zwiększają zasadowość wkrótce po zaszczerpieniu. W celu uzyskania prawidłowych wyników wykrywania *Proteae* wyniki należy odczytać w ciągu pierwszych 6 godzin inkubacji. *Citrobacter freundii* i *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* mogą dawać reakcje dodatnie w ciągu 24 – 48 godzin².
3. Do identyfikacji niezbędne są czyste kultury drobnoustrojów. W celu ostatecznej identyfikacji należy przeprowadzić badania morfologiczne, biochemiczne i/lub serologiczne. Szczegółowe informacje i opisy zalecanych procedur można znaleźć w stosownej literaturze^{4, 5, 7}.

XII CHARAKTERYSTYKA OZNACZENIA

Kantor i wsp. opracowali szybki i uproszczony schemat wykorzystujący co najmniej trzy, ale nie więcej niż siedem testów, które można rutynowo wykonywać w celu wykrywania niefermentujących bakterii gram-ujemnych. Przy użyciu tego schematu zidentyfikowano 229 nieznanych oraz 14 referencyjnych szczepów niefermentujących bakterii gram-ujemnych. Agar mocznikowy stosowano do różnicowania *Alcaligenes* sp. oraz *Pseudomonas alcaligenes* od *Bordetella bronchiseptica*⁹.

XIII DOSTĘPNOŚĆ

Nr kat.	Opis
221100	BD BBL Urea Agar Base Concentrate 10X (10X koncentrat agaru mocznikowego), pakowane po 10 probówek rozmiaru K
221096	BD BBL Urea Agar Slants, Complete (skosy pełnego agaru mocznikowego), pakowane po 10 probówek rozmiaru K
221097	BD BBL Urea Agar Slants, Complete (skosy pełnego agaru mocznikowego), karton zawiera 100 probówek rozmiaru K

XIV PIŚMIENNICTWO

1. Christensen, W.B. 1946. Urea decomposition as a means of differentiating *Proteus* and paracolon cultures from each other and from *Salmonella* and *Shigella* types. J. Bacteriol. 52:461-466.
2. MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacterial, 3rd ed., Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore.

3. Rustigian, R., and C.A. Stuart. 1941. Decomposition of urea by *Proteus*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 47:108-112.
4. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller and R.H. Tenover (ed.) 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
6. Ewing, W.H. 1985. *Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae*, 4th ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
7. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. *Bergey's Manual™ of determinative bacteriology*, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
8. Farmer, J.J., III. 1999. Enterobacteriaceae: introduction and identification, p. 442-458. *In* P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Kantor, L.T., S.D. Kominos, and R.B. Yee. 1975. Identification of nonfermentative gram-negative bacteria in the clinical laboratory. *Am. J. Med. Technol.* 41:3-9.

Dział Obsługi Technicznej firmy BD Diagnostics: należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem BD lub odwiedzić stronę www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD